



FLÁVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DOS AMBIENTES E DOS GENÓTIPOS NAS
TAXAS DE INDUÇÃO DE HAPLOIDIA EM MILHO**

LAVRAS - MG

2026

FLÁVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DOS AMBIENTES E DOS GENÓTIPOS NAS TAXAS DE INDUÇÃO
DE HAPLOIDIA EM MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação do Mestrado Profissional em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas para obtenção do título de mestre.

Prof. Dr. João Candido de Souza
Orientador

Dr. Luiz Silva Luz
Coorientador

**LAVRAS - MG
2026**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Oliveira, Flávio.

Influência dos ambientes e dos genótipos nas taxas de indução de haploidia em
milho / Flávio Oliveira. - 2026.

45 p. : il.

Orientador: João Candido de Souza

Coorientador: Luiz Silva Luz

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Lavras, 2026.
Bibliografia.

1. Zea mays L.. 2. Híbrido. 3. Melhoramento Genético. I. Candido de Souza,
João. II. Silva Luz, Luiz. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

FLÁVIO GONÇALVES DE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DOS AMBIENTES E DOS GENÓTIPOS NAS TAXAS DE INDUÇÃO
DE HAPLOIDIA EM MILHO**

**INFLUENCE OF ENVIRONMENTS AND GENOTYPES ON HAPLOID INDUCTION
RATES IN MAIZE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação do Mestrado Profissional em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas para obtenção do título de mestre.

APROVADO em 24 de março de 2026.

Dr. João Candido de Souza UFLA

Dr. Arthur Melo UFG

Dr. Luiz Silva Luz UFV

Prof. Dr. João Candido de Souza
Orientador

Dr. Luiz Silva Luz
Coorientador

**LAVRAS- MG
2026**

RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados no Brasil, com predominância de cultivares híbridas. A técnica de duplo-haploide revolucionou o melhoramento de milho, reduzindo significativamente o tempo necessário para alcançar a homozigose genética, na obtenção de linhagens endogâmicas, para posterior obtenção dos híbridos. Quando células haploides passam com sucesso pela duplicação cromossômica, seja provocada natural ou intencionalmente, elas geram um genótipo duplo-haploide. Hoje, são vários os métodos de obtenção de milho duplo-haploide, que no geral, seguem quatro etapas principais: indução do genótipo fonte; identificação das sementes haploides; duplicação dos cromossomos nos haploides e obtenção de sementes das linhagens duplo-haploides. Variáveis ambientais são fatores relevantes que podem influenciar o processo, sendo a altitude, um importante fator, pois tem efeito direto na temperatura que afeta a fotossíntese e a respiração das plantas. De modo geral, o milho cultivado em locais mais elevados tem um aumento na produtividade, a depender da adaptabilidade do genótipo. Assim, a hipótese deste trabalho é que as diferenças de altitude onde os duplo-haploides de milho são obtidos influenciam significativamente nas taxas de indução de haploidia, afetando a eficiência do processo. Objetiva-se, portanto, avaliar a influência da altitude, das safras, dos indutores e dos genótipos nas taxas de indução de haploidia em milho. Para averiguar tais suposições, quatro genótipos de milho de diferentes texturas e tipos de grãos serão induzidos e os campos de indução ocorreram em locais com diferentes altitudes (Cristalina, GO e Porto Nacional, TO), durante a primeira e segunda safra. A separação de sementes haploides e diploides foi realizada com base em marcadores morfológicos. Os resultados demonstraram variação significativa na taxa de indução de haploidia (TIH) em função dos ambientes avaliados, com médias variando de 1,59% a 3,50% e média geral de 2,38%. Observou-se maior eficiência de indução nos ambientes de segunda safra, evidenciando a influência das condições ambientais. A análise de variância confirmou efeito significativo de local, época de plantio, origem e tipo de indutor, sendo a época de plantio o fator de maior impacto. De modo geral, a interação entre fatores ambientais e genéticos determina a eficiência da indução de haploidia, contribuindo para a otimização da obtenção de duplo-haploides e maior eficiência nos programas de melhoramento de milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L. Híbrido. Melhoramento Genético

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is one of the most important cultivated cereals in Brazil, with predominance of hybrid cultivars. The double-haploid technique revolutionized the corn breeding programs by significantly reduce the time required to achieve genetic homozygosity in inbred lines for subsequent hybrid production. When haploid cells successfully undergo chromosome duplication, whether induced naturally or intentionally, they generate a double-haploid genotype. Nowadays there are several methods for obtaining double-haploids lines in corn, following four main steps: source genotype induction; haploids seeds identification; haploids chromosomes duplication and attainment of the double-haploid lines. Environmental diversity is a relevant factor that can influence this process. For corn, altitude is a key environmental factor that has a direct effect on temperature which affects plant photosynthesis and respiration. Generally, depending on the genotype adaptability, corn hybrids grown at higher altitudes show an increased yielding. So, the hypothesis of this study was evaluated whether the altitude where double-haploid corn is obtained can significantly affect the haploidy induction rate and the overall process efficiency. In addition to altitude, the growing seasons, the inducers type and the genotypes were also evaluated. Four corn genotypes with different textures and grain types were induced. The experiments were conducted at different altitudes, in Cristalina (GO) and Porto Nacional (TO), during the main season and during the off-season crop. The separation of haploid and diploid seeds was carried out based on morphological markers. The results demonstrated significant variation in the haploid induction rate (HIR) as a function of the evaluated environments, with values ranging from 1.59% to 3.50% and an overall mean of 2.38%. Higher induction efficiency was observed in second-season environments, highlighting the influence of environmental conditions. Analysis of variance confirmed significant effects of location, planting season, inducer origin, and inducer type, with planting season being the most influential factor. Overall, the interaction between environmental and genetic factors determines the efficiency of haploid induction, contributing to the optimization of doubled haploid production and improved efficiency in maize breeding programs.

Keywords: *Zea mays* L.; Hybrid; Genetic Improvement.

INDICADORES DE IMPACTO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos ambientes, das safras, dos indutores e dos genótipos nas taxas de indução de haploidia em milho, visando contribuir para a otimização da obtenção de linhas duplo-haploides em programas de melhoramento genético. Os resultados demonstraram que fatores ambientais, especialmente local de cultivo e época de plantio, exercem influência significativa sobre a taxa de indução de haploidia, com médias variando de 1,59% a 3,50%, evidenciando potencial para aumento da eficiência do processo de produção de linhagens homozigotas. O estudo apresenta impactos tecnológicos relevantes ao fortalecer o uso da tecnologia de duplo-haploides no melhoramento genético do milho, reduzindo o tempo necessário para obtenção de linhagens puras e aumentando a eficiência na seleção de híbridos comerciais adaptados às diferentes condições ambientais brasileiras. Os impactos econômicos estão relacionados à possibilidade de redução de custos operacionais em programas de melhoramento, maior agilidade no desenvolvimento de cultivares superiores e potencial incremento da produtividade agrícola. O trabalho também apresenta impactos sociais e ambientais indiretos, ao contribuir para o desenvolvimento de materiais genéticos mais adaptados e produtivos, favorecendo a sustentabilidade da cadeia produtiva do milho nas regiões avaliadas, especialmente nos estados de Goiás e Tocantins. A pesquisa contou com participação de pesquisadores, estudantes e equipe técnica vinculados à Universidade Federal de Lavras e à empresa Inova Genética, fortalecendo a integração entre universidade e setor produtivo. Os resultados do estudo estão alinhados às áreas temáticas de Meio Ambiente, Tecnologia e Produção e Trabalho, além dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável, 12 – Consumo e Produção Responsáveis, 13 – Ação Contra a Mudança Global do Clima e 15 – Vida Terrestre.

IMPACT INDICATORS

The present study aimed to evaluate the influence of environments, growing seasons, inducers and genotypes on haploid induction rates in maize, contributing to the optimization of doubled haploid line production in breeding programs. The results demonstrated that environmental factors, especially cultivation site and planting season, significantly affect haploid induction rates, with averages ranging from 1.59% to 3.50%, highlighting the potential to improve the efficiency of doubled haploid technology. The study presents important technological impacts by strengthening the application of doubled haploid techniques in maize breeding programs, reducing the time required to obtain homozygous lines and increasing efficiency in the selection of commercial hybrids adapted to different Brazilian environmental conditions. Economic impacts are associated with the potential reduction of operational costs in breeding programs, faster development of superior cultivars and possible gains in agricultural productivity. The research also presents indirect social and environmental impacts by contributing to the development of more adapted and productive genetic materials, favoring sustainability in the maize production chain in the evaluated regions, especially in the states of Goiás and Tocantins, Brazil. The study involved researchers, students and technical staff linked to the Federal University of Lavras and the company Inova Genética, strengthening the integration between university and the productive sector. The results are aligned with the thematic areas of Environment, Technology and Production, and Work, as well as with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) 2 – Zero Hunger and Sustainable Agriculture, 12 – Responsible Consumption and Production, 13 – Climate Action and 15 – Life on Land.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Aspectos botânicos do milho.....	11
2.2	Panorama da produção de milho.....	12
2.3	Interação genótipos por ambientes	13
2.4	Obtenção de linhagens de milho duplo haploide	14
2.4.1	Indução de genótipo fonte	14
2.4.2	Identificação de haploides	15
2.4.3	Duplicação dos cromossomos nos haploides	15
2.4.4	Obtenção de sementes das linhas DH.....	16
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1	Material Genético	16
3.2	Execução Experimental	17
3.3	Análises Genético-Estatísticas	18
3.3.1	Análises de Variância (ANOVA).....	18
3.3.2	Análise de comparação de médias – Boxplot.....	19
3.3.3	Método GGE biplot	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1	Amplitude, Médias e Análise de Variância (ANOVA).....	22
4.2	Análises dos gráficos boxplots por variáveis explicativas para Taxa de Indução de Haploidia (TIH)	24
4.2.1	TIH por local de condução dos ensaios.....	25
4.2.2	TIH por época de plantio	26
4.2.3	TIH por origem do indutor	27
4.2.4	TIH por tipo de indutor	28
4.2.5	TIH por populações alvo	29
4.2.6	TIH geral para todos os indutores avaliados	30
4.3	Análises dos gráficos boxplots da Taxa de Populações Induzidas (TPI) com sucesso em relação as variáveis explicativas	32
4.3.1	TPI em função do local de condução dos ensaios	32
4.3.2	TPI em função da época de plantio	33

4.3.3	TPI em função da origem do indutor.....	33
4.3.4	TIH em função do indutor	34
4.4	Adaptabilidade ambiental e estabilidade genotípica.....	35
4.4.1	O método GGE biplot.....	35
4.4.2	Análise gráfica “which-won-where”	36
5	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, dentre os cereais mais cultivados, o milho (*Zea mays* L.) é o mais expressivo, (IBGE, 2023), sendo as cultivares disponíveis no mercado em sua maior parte híbridas, por volta de 90% (Pereira Filho; Borghi, 2022). A obtenção de linhagens endogâmicas, para posterior obtenção dos híbridos, foi revolucionada com o uso da técnica de duplo-haploide (DH), que veio como uma alternativa eficaz em relação ao método tradicional de obtenção de linhagem endogâmica de milho. O processo tradicional requer de seis a oito gerações de autofecundações, para que a planta alcance o percentual de homozigose necessário (Chang; Coe, 2009; Mitiku, 2022; Prasanna; Chaikam; Mahuku, 2012).

Com a tecnologia DH, a homozigose genética é alcançada em uma única geração, tornando-se popular por acelerar o melhoramento genético em culturas como o milho acelerando o lançamento de híbridos comerciais no mercado de sementes (Chaikam et al., 2019; Dang et al., 2012; Wang et al., 2019). Inicialmente é feita a indução dos haploide, que possui apenas uma cópia de cada gene. A duplicação cromossômica dos haploides origina os duplo-haploides (DH), que apresentam 100% de homozigose genética. Esses genótipos não exibem segregação mendeliana nas gerações subsequentes, exceto por variações decorrentes de mutações espontâneas (Chang; Coe, 2009; Prasanna; Chaikam; Mahuku, 2012).

A tecnologia em milho tornou-se parte integrante de diversos programas de melhoramento comerciais por facilitar a logística, no que se refere ao tempo, trabalho e recursos financeiros para o desenvolvimento de linhagens (Prasanna; Chaikam; Mahuku, 2012). Assim, permite-se também, uma melhor exploração da variabilidade genética e aumento da eficiência da seleção (Pires et al., 2019), em especial quando combinado a marcadores moleculares, oferecendo oportunidade para a realização de estudos de associação de características de interesse, introgressão genética, genômica funcional, citogenética molecular e engenharia genética (Chaikam et al., 2019; Prasanna; Chaikam; Mahuku, 2012).

O aumento da eficiência da produção da linha DH e a redução do custo por linha DH impulsionaram a integração perfeita da tecnologia DH em programas de melhoramento de milho. No entanto, questões ambientais que influenciam na taxa de indução de haploidia (TIH) e obtenção de DH são pouco abordadas em literaturas específicas. Questões limitantes frequentemente abordadas são relacionadas a indutores com alta capacidade de indução e protocolos eficientes e reprodutíveis de duplicação cromossômica (Pires et al., 2019).

A altitude influencia o desempenho da cultura do milho, pois tem efeito direto na temperatura o que afeta a fotossíntese e a respiração das plantas. De forma geral, o milho

cultivado em maiores altitudes apresenta maior rendimento de grãos, que acarreta maior produtividade (Cruz et al., 2011).

Do exposto, a hipótese deste trabalho é que as diferenças ambientais, em especial a altitude onde os duplo-haploides de milho são obtidos e o genótipo estudado influenciam significativamente nas taxas de indução de haploidia (TIH), afetando a eficiência geral do processo e a qualidade das linhagens DH resultantes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos botânicos do milho

É uma cultura diploide ($2n = 20$), nativa da América Central (México), pois lá são encontrados seus parentes silvestres mais próximos (Teosinte e *Tripsacum*). É uma planta anual da ordem Poales, família *Poaceae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. (Belay, 2022; Pinho; Santos; Pinho, 2017).

A planta de milho é dividida morfológicamente em duas partes, a primeira localizada abaixo do solo, formada pelo sistema radicular e a segunda pela parte aérea, conformada pelo caule, folhas, pendão e espiga (Pinho; Santos; Pinho, 2017).

O ciclo de desenvolvimento inicia-se com a germinação e emergência da plântula, nutrida inicialmente pelas reservas da semente. A radícula é responsável pelo estabelecimento inicial e perdura até o início do estágio vegetativo 3 (V3) quando surgem os pelos radiculares. As raízes secundárias se desenvolvem entre o 4º e 6º nó, por volta do estágio V6, sendo as principais responsáveis pela nutrição da planta. No final do ciclo vegetativo surgem as raízes adventícias responsáveis pela sustentação (EMBRAPA, 2017; Pinho; Santos; Pinho, 2017).

O colmo é dividido em nós e entrenós, variando de 10 a 24. A planta atinge em média dois metros, variando de um metro (linhagens) a quatro metros (híbridos antigos) apresentando na sua extremidade superior a inflorescência masculina (pendão), com as espiguetas masculinas reunidas em espigas verticais terminais (Pinho; Santos; Pinho, 2017; Silva *et al.*, 2021).

Por volta de dez dias após o surgimento do pendão, surge a inflorescência feminina (espiga), quando a planta tem de 11 a 12 folhas expandidas. O período da diferenciação do pendão até o florescimento dura de cinco a seis semanas, coincidindo com o surgimento das raízes secundárias nos nós inferiores acima do solo (EMBRAPA, 2017, Pinho; Santos; Pinho, 2017).

De 10 a 12 dias após o surgimento do pendão, quando os estilos-estigmas se tornam visíveis, ocorre a polinização (EMBRAPA, 2006). Na espiga, podem se formar entre 700 e 1000 óvulos. Após a fecundação dos óvulos, a planta leva aproximadamente 60 dias para atingir a maturação fisiológica, momento em que ocorre o máximo acúmulo de massa seca nos grãos (EMBRAPA, 2017).

2.2 Panorama da produção de milho

A produção global de milho (grãos) na safra 2021/22 atingiu a marca de 1,16 bilhão de toneladas. Os principais produtores mundiais foram os Estados Unidos da América (EUA), liderando com 348,75 milhões de toneladas, seguidos pela China, com 277,20 milhões de toneladas e Brasil, com 113,13 milhões de toneladas. A China apresentou maior área cultivada com 43,05 milhões de hectares, seguido pelos EUA com 32,05 milhões de hectares e pelo Brasil, que deteve 21,58 milhões de hectares, sendo a produção global de 204,53 milhões de hectares (AMIS, 2023).

Na safra 2022/2023 houve um aumento de 3,2% da área plantada de milho no Brasil, alcançando 22.269,2 milhões de hectares cultivados, sendo a região Centro-Oeste responsável por 52,32% desta área. A produtividade nacional média teve um aumento de 13% chegando a 5.923 kg/ha e a região Centro-Oeste obteve a maior produtividade (6.641 kg/ha). A produtividade teve um acréscimo de 16,6%, chegando a 131.892,6 milhões de hectares. O Centro-Oeste brasileiro é o maior produtor nacional, com 58,66% na safra 2022/2023 (Tabela 1) (CONAB, 2024).

Tabela 1 – Dados de área, produção e produtividade para safras 2021/22 e 2022/23.

Região	Safr		Variação (%)
	2021/22	2022/23	
ÁREA (milhões de hectare)			
Norte	1.089,6	1.229,9	12,9
Nordeste	3.167,2	3.300,7	4,2
Centro-oeste	10.713,4	11.650,5	8,7
Sudeste	2.280,9	2.088,8	-8,4
Sul	4.329,5	3.999,3	-7,6
Brasil	21.580,6	22.269,2	3,2
PRODUTIVIDADE (kg/ha)			
Norte	4.277	4.332	1,3
Nordeste	3.390	3.542	4,5
Centro-oeste	5.993	6.641	10,8
Sudeste	5.285	6.088	15,2
Sul	4.959	6.198	25,0
Brasil	5.242	5.923	13,0

Fonte: Adaptado de CONAB (2024).

Tabela 2 – Dados de área, produtividade e produção para safras 2021/22 e 2022/23

Região	Safr		Variação (%)
	2021/22	2022/23	
PRODUÇÃO (milhões de toneladas)			
Norte	4.660,5	5.327,3	14,3
Nordeste	10.737,0	11.691,5	8,9
Centro-oeste	64.210,1	77.369,5	20,5
Sudeste	12.054,9	12.716,1	5,5
Sul	21.467,9	24.788,2	15,5
Brasil	113.130,4	131.892,6	16,6
Fonte: Adaptado de CONAB (2024).			

Fonte: Adaptado de CONAB (2024).

A níveis regionais para a safra 2022/23 as maiores áreas plantadas são dos estados de Mato Grosso (7.428,1 milhões de hectares), Paraná (2.855,8 milhões de hectares) e Mato Grosso do Sul (2.262,6 milhões de hectares), respectivamente. No que se refere à produtividade destacam-se: Santa Catarina (8.164 kg/ha), Mato Grosso (6.898 kg/ha) e Roraima (6.720 kg/ha). A produção é liderada pelo Mato Grosso (51.240,6 milhões de toneladas), seguido por Paraná (18.509,2 milhões de toneladas) e Mato Grosso do Sul (13.112,2 milhões de toneladas) (CONAB, 2024).

O milho destaca-se por sua importância econômica pois, além de ser utilizado na alimentação humana e animal, é utilizado também na indústria tecnológica. Além disso, o milho vem sendo utilizado para produção de etanol como alternativa à cana-de-açúcar (Coelho, 2023; EMBRAPA, 2021; Sampaio; De Assis, 2023).

2.3 Interação genótipos por ambientes

Para Borém e Miranda (2013) às características edafoclimáticas relacionadas ao cultivo, como a distribuição das chuvas, a umidade do ar, a temperatura do ar e do solo, a infestação de pragas e a ocorrência de doenças, entre outros fatores que influenciam o crescimento das plantas, são coletivamente chamadas de ambiente. Em outras palavras, o ambiente é composto por todos os fatores que afetam o desenvolvimento das plantas e que não têm origem genética.

Assim, a diversidade ambiental torna-se um fator relevante no melhoramento de plantas, tendo em vista a importância da interação genótipos por ambientes que influenciam as características de interesse, uma vez que os sistemas de produção não são idênticos. Em uma mesma região edafoclimática existem condições distintas de solo, clima, biodiversidade e práticas de gestão, o que torna a avaliação dos genótipos para a recomendação de cultivo em diferentes ambientes uma das etapas mais importantes em programas de melhoramento (Simon *et al.*, 2020; Zystro *et al.*, 2021).

Na cultura do milho um fator ambiental influente é a altitude, pois tem efeito direto na temperatura, afetando a fotossíntese e a respiração. A cultura é distribuída nas mais diversas altitudes, estabelecendo-se desde as localidades situadas abaixo do nível do mar, região do Mar Cáspio, até as regiões mais elevadas como os Andes peruanos com 2.500m de altitude, presentes em quase todos os continentes (Cruz et al., 2011; Fancelli, 2015; Solaimalai *et al.*, 2020;).

No Brasil, o milho cultivado em maiores altitudes apresenta maior número de dias para atingir o pendoamento, aumentando o ciclo e apresentando maior rendimento de grãos, que acarreta maior produtividade. Altitudes mais elevadas resultam em temperaturas máximas menores e mais próximas da temperatura ótima. Menores temperaturas noturnas diminuem a taxa de respiração, resultando na redução do ponto de compensação, que também implica o aumento da produtividade (Cruz et al., 2011).

2.4 Obtenção de linhagens de milho duplo haploide

Quando células haploides passam com sucesso pela duplicação cromossômica, seja provocada natural ou intencionalmente, elas geram um genótipo DH (Mitiku, 2022). Hoje, são vários os métodos de obtenção de DH, em milho segue quatro etapas principais: (1) indução do genótipo fonte; (2) identificação das sementes haploides; (3) duplicação dos cromossomos nos haploides; e (4) obtenção de sementes das linhas DH (Borém; Miranda; Chaikam et al., 2019).

De modo geral, a indução é realizada pelo cruzamento de uma planta indutora de haploidia (geralmente como parental masculino) com o genótipo fonte ou alvo, a identificação das sementes haploides ocorre através de marcadores morfológicos no grão, a duplicação cromossômica dos haploides é realizada, geralmente, por tratamento com colchicina e para obtenção de sementes DH é realizada autofecundação de plantas D0 (Mitiku, 2022).

2.4.1 Indução de genótipo fonte

Tanto os métodos *in vitro* quanto *in vivo* podem ser utilizados para obter haploides de milho, no entanto técnicas *in vitro* são limitadas devido à falta de resposta de muitos genótipos e à necessidade de recursos financeiros e humanos (Chaikam et al., 2019; Mitiku, 2022). A indução de haploides no milho é diversificada e os principais métodos são descritos a seguir (Chang e Coe, 2009):

I. Haploides espontâneos: Ocorrem naturalmente com uma frequência de 0,05 a 0,1%, sendo a maioria de origem materna.

II. Indução genética: Certos estoques genéticos ou genes específicos podem aumentar significativamente a produção de sementes haploides. Esse mecanismo ainda não é completamente compreendido.

III. Modificações no manejo: Embora a indução de haploidia seja majoritariamente de origem genética, fatores ambientais e de manejo podem influenciar positivamente o processo.

IV. Indução artificial: Envolve o uso de agentes químicos, radiação ou culturas celulares para obtenção de haploides, embora com limitações práticas em milho.

V. Culturas celulares: Métodos como cultura de anteras, embriões e micrósporos são utilizados para obter plântulas haploides, apesar da baixa eficiência.

VI. Cruzamentos amplos e eliminação cromossômica: Hibridização remota e eliminação cromossômica podem gerar haploides duplicados em algumas espécies.

VII. Apomixia: A indução ocorre pela regeneração de sementes ou plântulas de gametófitos não fertilizados.

2.4.2 Identificação de haploides

Os haploides induzidos *in vivo* podem ser distinguidos dos diploides nos estágios de semente, plântula ou planta adulta. Marcadores de cor são frequentemente usados para separar entre grãos obtidos por fertilização comum e aqueles advindos por indução haploide (Chaikam et al., 2019; Mitiku, 2022).

Como os haploides ocorrem com uma frequência de aproximadamente 10%, a maioria das sementes resultantes dos cruzamentos de indução são diploides, tornando-se inadequadas para a produção de linhas DH. Identificar haploides na fase de semente é altamente vantajoso, pois reduz significativamente o número de mudas e plantas que precisam ser tratadas nas etapas subsequentes do desenvolvimento de linhas DH, resultando em uma economia substancial de custos. A distinção entre haploides e diploides pode ser feita pela expressão de marcadores genéticos ou por diferenças intrínsecas entre eles (Chaikam et al., 2019).

2.4.3 Duplicação dos cromossomos nos haploides

Como as plantas haploides são estéreis, a duplicação do conjunto de cromossomos se torna o passo mais importante após a seleção de sementes haploides (Dang et al., 2012), sendo necessário duplicar seu conjunto cromossômico para restaurar o número de cromossomos e estabilizar as características desejadas na planta. Para obter haploides duplicados, utilizam-se alguns métodos de duplicação cromossômica (Chang; Coe, 2009):

I. Duplicação espontânea: A duplicação espontânea produz plantas diplóides férteis. Uma pequena proporção de células haploides somáticas de uma planta haploide pode se duplicar espontaneamente por fusão de células somáticas, endoreduplicação, endomitose ou outros mecanismos.

II. Seleção para duplicação espontânea: A recuperação de linhas haploides duplicadas, utilizando linhas DH como pais fonte no próximo ciclo de seleção, aumenta a frequência de diploidização espontânea.

III. Duplicação artificial: Quando a taxa de restauração espontânea da fertilidade do pendão é superior a 20%, não é necessário aplicar tratamento químico para duplicar o número de cromossomos. No entanto, é possível aumentar a frequência de duplicação em plântulas haploides para 20-50% tratando mudas haploides com solução de colchicina a 0,06-0,5% (Rotarencu et al., 2010; Prasanna et al., 2012; Chaikam et al., 2019).

2.4.4 Obtenção de sementes das linhas DH

A autofecundação de plantas haploides após a duplicação cromossômica produz linhagens DH. Tal processo é delicado tendo em vista a sensibilidade das plantas haploides que apresentam suscetibilidade a vários estresses bióticos e abióticos. O próprio tratamento de duplicação cromossômica impõe mais estresse, aumentando assim a mortalidade de mudas (Chaikam et al., 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Genético

Para a realização deste trabalho, foram utilizados quatro indutores de haploidia disponibilizados pelo Cimmyt e oito indutores previamente submetidos a um processo de melhoramento visando à adaptação ao ambiente tropical, conduzido pelo programa de melhoramento de milho da Inova Genética Ltda, totalizando 12 indutores de haploidia (Tabela

3). Foram avaliadas oito populações de milho em geração F_2 segregante: IMB24535 (A), IMB24536 (B), IMB24538 (C), IMB24539 (D), IMB24540 (E), IMB24543 (F), IMB24545 (G) e IMA20808 (H). As populações diferem quanto ao tipo de grão, sendo amarelo semi-dentado (A–D), alaranjado semi-duro (E–G) e branco duro (H). Os campos de indução foram instalados nas Estações de pesquisa da Inova Genética, em dois locais de altitudes distintas: Cristalina, Goiás (994m) e Porto Nacional, Tocantins (230m).

Tabela 3 - Caracterização dos indutores de haploidia quanto ao tipo, origem, safra de avaliação e locais.

Indutor	Tipo	Origem	Safra	Locais
CIMP1	Linhagem	Cimmyt	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN
CIMP1.7411	Linhagem	Inova	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN
CIMP1.7411 x CIMP1	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP1.7411 x CIMP2.1061	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP1.7411 x CIMP2.A	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP1.7411 x CIMP2.B	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP1.7411 x CIMP3	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP1 x CIMP2.B	Híbrido	Inova	2 ^a safra	CRI e PN
CIMP2	Linhagem	Cimmyt	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN
CIMP2.932	Linhagem	Inova	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN
CIMP3	Linhagem	Cimmyt	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN
CIMP4	Híbrido	Cimmyt	1 ^a e 2 ^a safras	CRI e PN

Fonte: Do autor (2026).

3.2 Execução Experimental

Os campos de indução conduzidos em Cristalina foram caracterizados por alta altitude e, em Porto Nacional, por baixa altitude. Para a montagem dos ensaios, foram preparados oito saquinhos com 25 sementes de cada indutor, para cada local e safra. Já para as populações, foram feitos seis saquinhos com 12 sementes para cada ensaio. Assim, totalizaram-se quatro experimentos: dois conduzidos em Cristalina, sendo primeira safra (CRI_Safra1) e segunda safra (CRI_Safra2), e dois em Porto Nacional, correspondentes à primeira safra (PN_Safra1) e segunda safra (PN_Safra2).

O plantio dos campos de indução seguiu o Delineamento de Blocos Casualizados e iniciou-se pelas populações a serem induzidas, sendo implantadas seis linhas de 2 metros cada, em apenas uma época de plantio. Na sequência, foram plantados os indutores, que foram semeados em uma linha de 5 metros, em quatro épocas distintas (5, 10, 15 e 20 dias após o semeio das populações), com duas repetições, visando melhor sincronização do florescimento.

As induções foram realizadas manualmente. Após a coleta do pólen dos indutores, foi realizada a polinização das plantas dos genótipos a serem induzidos. Antes que os estilestigmas estivessem receptíveis, as espigas foram previamente protegidas com saquinhos apropriados, a fim de evitar polinização com pólen indesejável. Para cada cruzamento realizado, foi feita a identificação correspondente, garantindo a rastreabilidade dos genitores.

Após a maturação fisiológica das espigas provenientes dos cruzamentos, foi realizada a colheita individual de cada espiga, utilizando-se sacos apropriados e zelando-se pela correta identificação da origem e dos respectivos genitores. Em seguida, as espigas foram encaminhadas ao secador até atingirem aproximadamente 13% de umidade. Posteriormente, procedeu-se à trilha e ao armazenamento das sementes em câmara fria.

A separação das sementes haploides das diploides foi realizada com base no marcador morfológico R1-navajo (R1-nj), no qual sementes com endosperma roxo e embrião branco foram classificadas como haploides, enquanto as demais foram consideradas diploides (Chaikam et al., 2019). Dessa forma, foi possível estimar a taxa de indução de cada indutor em cada genótipo fonte.

3.3 Análises Genético-Estatísticas

3.3.1 Análises de Variância (ANOVA)

Após a obtenção, tabulação e organização dos dados referentes à TIH, realizou-se o teste de normalidade dos resíduos por meio do teste de Shapiro-Wilk, visando verificar o atendimento aos pressupostos da análise de variância. Uma vez atendido esse pressuposto, procedeu-se à análise de variância (ANOVA) individual para cada ambiente, utilizando-se o pacote estatístico *agricolae* no software R (DE MENDIBURU, 2020).

As análises individuais foram conduzidas considerando o delineamento em blocos casualizados (DBC), segundo o seguinte modelo estatístico:

$$y_{ij} = \mu + I_i + B_j + e_{ij}$$

em que:

- y_{ij} é o valor observado da taxa de indução do i -ésimo indutor no j -ésimo bloco;
- μ é a média geral do experimento;
- I_i é o efeito fixo do i -ésimo indutor;
- B_j é o efeito do j -ésimo bloco;

- e_{ij} é o erro aleatório associado à observação, assumindo distribuição normal com média zero e variância constante, $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

A análise individual teve como objetivo verificar a existência de diferenças significativas entre os indutores dentro de cada ambiente avaliado.

Posteriormente, realizou-se a análise de variância conjunta para os ambientes que apresentaram homogeneidade das variâncias residuais. A homogeneidade foi verificada conforme o critério proposto por Pimentel-Gomes (2000), considerando-se homogêneas as variâncias quando a razão entre o maior e o menor quadrado médio do resíduo (QMR) das análises individuais foi inferior a 7,0.

Atendido esse pressuposto, procedeu-se à ANOVA conjunta, também utilizando o pacote *agricolae* (DE MENDIBURU, 2020), segundo o modelo estatístico:

$$y_{ijkl} = \mu + L_l + O_o + E_p + T_t + P_q + H_r + B_{j(l)} + e_{ijkl}$$

em que:

- y_{ijkl} é o valor observado da taxa de indução;
- μ é a média geral;
- L_l é o efeito fixo do l -ésimo local;
- O_o é o efeito fixo da origem do indutor;
- E_p é o efeito fixo da época de plantio;
- T_t é o efeito fixo do tipo de indutor;
- P_q é o efeito fixo da população;
- H_r é o efeito fixo do grupo heterótico;
- $B_{j(l)}$ é o efeito do j -ésimo bloco dentro do l -ésimo local;
- e_{ijkl} é o erro aleatório associado à observação, assumindo $e_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2)$.

Os efeitos foram avaliados por meio do teste F ao nível de 5% de probabilidade. O coeficiente de variação experimental (CV%) foi estimado para mensurar a precisão experimental, sendo interpretado conforme recomendações clássicas para experimentação agrícola (PIMENTEL-GOMES, 2000).

3.3.2 Análise de comparação de médias – Boxplot

A distribuição da TIH e da taxa de populações induzidas foi avaliada por meio de gráficos do tipo boxplot (diagrama de caixas), considerando os diferentes fatores explicativos

do experimento: local, época de plantio, origem do indutor, tipo de indutor, populações e indutores per se.

Os boxplots foram construídos a partir dos valores observados de TIH, permitindo a visualização simultânea da mediana, da amplitude interquartílica (AIQ) — correspondente ao intervalo entre o primeiro (Q1) e o terceiro quartil (Q3) —, dos limites inferior e superior dos dados não discrepantes e da presença de valores extremos (*outliers*). Esse tipo de representação gráfica possibilita comparar tendência central, dispersão e assimetria dos dados entre diferentes grupos experimentais (Tukey, 1977).

A amplitude interquartílica foi utilizada como medida robusta de variabilidade, uma vez que é pouco sensível a valores extremos e fornece estimativa consistente da dispersão dos 50% centrais dos dados (Montgomery, 2019). A interpretação gráfica considerou: (i) a posição da mediana como indicador de desempenho médio relativo; (ii) a altura da caixa como indicativo de variabilidade central; (iii) a extensão dos bigodes como indicativo da amplitude total não discrepante; (iv) a presença de *outliers* como possíveis respostas específicas associadas à interação genótipo × ambiente.

As análises gráficas foram realizadas no software R (R Core Team, 2023), utilizando rotinas do pacote *ggplot2* (Wickham, 2016). A visualização por boxplots foi empregada como ferramenta complementar à análise de variância, permitindo interpretação exploratória da variação fenotípica e da estabilidade relativa dos indutores sob diferentes condições ambientais.

3.3.3 Método GGE biplot

Para a análise de adaptabilidade e estabilidade da TIH foi utilizado o método GGE biplot (*Genotype plus Genotype by Environment*), proposto por Yan et al. (2000). Somente os seis indutores de haploidia avaliados nos quatro locais e nas duas safras (Tabela 3) foram utilizados nestas análises. O modelo GGE não dissocia o efeito principal de indutor (G) do efeito da interação indutor × ambiente (G×A), mantendo ambos combinados em termos multiplicativos, o que permite avaliar simultaneamente desempenho médio e estabilidade dos indutores nos diferentes ambientes avaliados.

O modelo geral adotado foi:

$$y_{ij} - \mu - \beta_j = g_{i1}e_{j1} + g_{i2}e_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

em que:

y_{ij} = valor observado da taxa de indução do i-ésimo indutor no j-ésimo ambiente;

μ = média geral;

β_j = efeito principal do ambiente j;

g_{i1} e g_{i2} = escores do i-ésimo indutor associados ao primeiro e segundo componentes principais;

e_{j1} e e_{j2} = escores do j-ésimo ambiente nos respectivos componentes principais;

ε_{ij} = erro residual não explicado pelo modelo.

A decomposição foi realizada por meio da análise de componentes principais (ACP), com base na decomposição em valores singulares da matriz $G + G \times A$, conforme descrito por Yan et al. (2000) e Yan (2001), segundo o modelo:

$$y_{ij} - \mu - \beta_j = \lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

em que:

λ_1 e λ_2 = autovalores associados ao primeiro (PC1) e segundo (PC2) componentes principais;

ξ_{i1} e ξ_{i2} = autovetores do i-ésimo indutor para PC1 e PC2;

η_{j1} e η_{j2} = autovetores do j-ésimo ambiente para PC1 e PC2;

ε_{ij} = erro associado ao modelo.

A estabilidade foi interpretada com base na projeção dos indutores em relação ao eixo da Coordenada do Ambiente Médio (CMA). Quanto menor a projeção perpendicular ao eixo da média, menor a contribuição da interação $G \times A$ e, conseqüentemente, maior a estabilidade do indutor ao longo dos ambientes (Yan et al., 2007).

Foram gerados três tipos principais de biplots:

- *Ranking Genotypes*: permite classificar os indutores quanto ao desempenho médio e estabilidade simultaneamente;
- *Which-won-where*: possibilita identificar o indutor de melhor desempenho em cada ambiente e a formação de possíveis mega-ambientes;
- *Relationship among environments*: análise de discriminação e representatividade dos ambientes, avaliadas com base no comprimento dos vetores ambientais (capacidade discriminante) e no ângulo entre eles (correlação entre ambientes).

As análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2023), utilizando os pacotes GGEBiplots (Dumble, 2017) e gge (Wright e Laffont, 2017).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Amplitude, Médias e Análise de Variância (ANOVA)

Através do teste de normalidade de Shapiro-Wilk percebeu-se, que não há evidências para rejeição da hipótese de normalidade, indicando que os dados apresentam distribuição normal (Shapiro & Wilk, 1965). Observou-se variação na TIH nos diferentes ambientes avaliados individualmente (Tabela 4).

Tabela 4 - Resumo da análise de variância individual para TIH avaliados em 4 ambientes. Foram avaliados seis e quatorze indutores na primeira e segunda safra, respectivamente. Safras 2023/24 e 2024/25.

FV	CRI_Safra1		PN_Safra1		CRI_Safra2		PN_Safra2	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Indutores	5	0,0038***	5	0,0028***	12	0,0014ns	13	0,003*
Resíduo	116	0,0006	132	0,0007	104	0,002	98	0,0017
CV%		1,45		1,66		1,57		1,17
Mínima		0		0		0		0
Média		1,63		1,59		2,81		3,50
Máxima		11,45		14,13		16,83		16,67

***, ** e *, significativo para 0,1%, 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Do autor (2026).

Considerando as análises por local e safra (CRI_Safra1, PN_Safra1, CRI_Safra2 e PN_Safra2), as médias da TIH variaram de 1,59% (PN_Safra1) a 3,50% (PN_Safra2). O ambiente CRI_Safra1 apresentou média de 1,63%, enquanto CRI_Safra2 apresentou média de 2,81%. A média geral da TIH foi de 2,38%. Em relação aos valores extremos, a taxa mínima observada foi 0,00% em todos os ambientes, enquanto a máxima variou consideravelmente, sendo 11,45% em CRI_Safra1, 14,13% em PN_Safra1, 16,83% em CRI_Safra2 e 16,67% em PN_Safra2 (Tabela 4). Dessa forma, CRI_Safra2 apresentou o maior valor máximo observado, evidenciando maior amplitude de variação nesse ambiente. De modo geral, verificou-se tendência de maiores médias da TIH nos ambientes CRI_Safra2 e PN_Safra2 em comparação a CRI_Safra1 e PN_Safra1, indicando possível influência das condições ambientais específicas dessas safras e locais sobre a eficiência de indução (Figura 1).

Na análise individual conduzida para o local CRI_Safra1, verificou-se efeito significativo dos indutores para a taxa de indução ($p < 0,001$), evidenciando a existência de diferenças estatísticas entre os materiais avaliados nesse ambiente. De forma semelhante, no

ambiente PN_Safra1 também foi constatado efeito significativo ($p < 0,001$), confirmando a presença de variabilidade entre os indutores nesse local. No ambiente PN_Safra2, a significância observada foi a ($p < 0,05$). Por outro lado, em CRI_Safra2 não foi detectado efeito significativo para os indutores, sugerindo ausência de diferenças estatísticas entre os materiais avaliados nesse ambiente específico. O coeficiente de variação experimental (CV%) variou de 1,17% (PN_Safra2) a 1,66% (PN_Safra1), indicando boa precisão experimental em todos os ambientes avaliados. O ambiente PN_Safra1 apresentou maior variação residual, enquanto PN_Safra2 apresentou maior estabilidade experimental (Tabela 4).

Sabe-se que, além de diversos fatores ambientais, o background genético dos genótipos fonte, a base genética dos indutores, a textura do endosperma e outros fatores têm influência direta na TIH em milho (Trentin et al. 2022). A depender dos fatores genéticos e ambientais e da interação entre eles, a TIH em milho pode atingir valores próximos de 17% em condições específicas (Rotarenco et al., 2010; Chaikam et al., 2018).

A razão entre o maior e o menor quadrado médio residual das análises individuais foi 3,48 (Tabela 5 e 6), indicando homogeneidade das variâncias residuais (Pimentel-Gomes, 2000). Em função disso, tornou-se viável a realização da análise conjunta dos dados.

O efeito de local foi significativo ($p < 0,001$), indicando diferenças consistentes entre os ambientes avaliados. A magnitude do quadrado médio demonstra que a variação entre locais foi aproximadamente 7,7 vezes superior ao quadrado médio residual (0,0013), evidenciando forte influência ambiental sobre a TIH. Para origem do indutor, verificou-se efeito significativo ($p < 0,001$), sendo este um dos fatores de maior magnitude dentre os avaliados. O valor do quadrado médio foi aproximadamente 17 vezes superior ao resíduo, indicando expressiva contribuição da base genética do indutor para a eficiência do processo (Tabela 5). O fator época apresentou o maior quadrado médio observado ($p < 0,001$), representando aproximadamente 21 vezes o quadrado médio residual. Esse resultado indica que a variação de safra (época de plantio) foi o principal determinante da expressão da taxa de indução no conjunto dos dados (Tabela 5, Figura 2). Silva (2017) também mostrou que TIH é significativamente influenciada pela época de plantio e pelo genótipo fonte; no entanto, diferente do encontrado no presente trabalho, Silva (2017) mostrou que a safra de verão foi mais eficiente, com maiores taxas de indução.

Tabela 5 - Resumo das análises de variância conjunta para 3 variáveis explicativas (Local, Origem do indutor e época de plantio) de taxa de indução de 6 indutores de haploidia avaliados em 4 ambiente em condições de primeira e segunda safra.

FV	Local		Origem do indutor		Época de plantio	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Indutores	3	0,010***	1	0,022***	1	0,028***
Resíduo	485	0,0013	487	0,0013	487	0,0013
QMRmaior/QMRmenor		3,48		3,48		3,48
CV%		1,28		1,29		1,28
Mínima		0		0		0
Média		2,38		2,38		2,38
Máxima		16,83		16,83		16,83

***, ** e *, significativo para 0,1%, 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Do autor (2026).

O tipo de indutor também apresentou efeito significativo ($p < 0,001$), embora com magnitude inferior à observada para época e origem. Para o fator população e grupo heterótico, não foi verificado efeito significativo, indicando comportamento relativamente uniforme das populações quanto à resposta à indução (Tabela 6).

Tabela 6 - Resumo das análises de variância conjunta para 3 variáveis explicativas (Tipo do indutor, População e Grupo heterótico) de taxa de indução de 6 indutores de haploidia avaliados em 4 ambiente em condições de primeira e segunda safra.

FV	Tipo do indutor		População		Grupo heterótico	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Indutores	1	0,009***	7	0,002 ns	1	0,0002 ns
Resíduo	487	0,0013	481	0,0013	487	0,0013
QMRmaior/QMRmenor		3,48		3,48		3,48
CV%		1,3		1,3		1,31
Mínima		0		0		0
Média		2,38		2,38		2,38
Máxima		16,83		16,83		16,83

***, ** e *, significativo para 0,1%, 1% e 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Do autor (2026).

4.2 Análises dos gráficos boxplots por variáveis explicativas para Taxa de Indução de Haploidia (TIH)

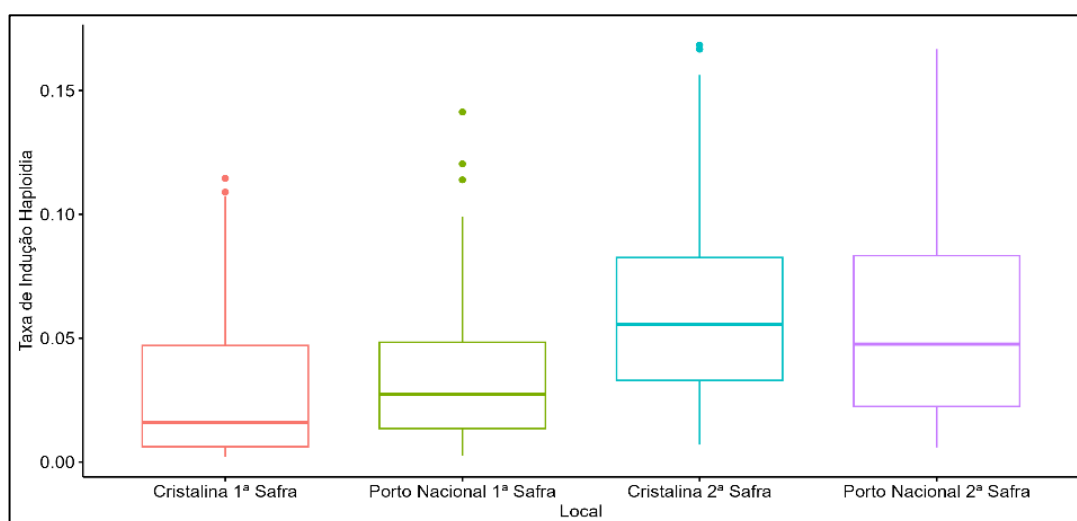
As análises por meio de boxplots foram conduzidas considerando as Taxas de Indução de Haploidia (TIH) observada para cada indutor avaliado, em função de diferentes variáveis

explicativas. Essa abordagem permitiu visualizar a distribuição dos dados, a mediana, a amplitude interquartílica e a presença de valores discrepantes, possibilitando comparar o desempenho dos indutores sob distintas condições experimentais e identificar padrões de variabilidade e estabilidade na taxa de indução.

4.2.1 TIH por local de condução dos ensaios

O boxplot evidencia variação da TIH entre os quatro ambientes avaliados: CRI_Safra1, PN_Safra1, CRI_Safra2 e PN_Safra2. Observa-se que CRI_Safra2 apresenta a maior mediana ($\approx 0,055$), seguida por PN_Safra2 ($\approx 0,048-0,05$), enquanto CRI_Safra1 ($\approx 0,015-0,018$) e PN_Safra1 ($\approx 0,027-0,030$) apresentam medianas inferiores. Esses resultados indicam diferença clara no desempenho médio da indução entre os ambientes (Figura 1).

Figura 1 - Taxa de indução haploide (TIH) em função do local



Fonte: Do autor (2026).

Em termos de dispersão, CRI_Safra2 apresenta a maior amplitude interquartílica, evidenciada pela maior altura da caixa, indicando maior variabilidade na taxa de indução nesse ambiente. PN_Safra2 também apresenta dispersão considerável. Por outro lado, CRI_Safra1 apresenta caixa mais estreita, sugerindo maior homogeneidade dos valores centrais. Nota-se ainda a presença de valores extremos, sobretudo nos ambientes de segunda safra, indicando ocorrência pontual de taxas mais elevadas.

A integração entre boxplot, QM e CV permite concluir que há influência significativa do ambiente sobre a taxa de indução, com destaque para CRI_Safra2, que apresentou maior desempenho mediano, embora com maior variabilidade interna. Em contraste, CRI_Safra1 apresentou os menores valores centrais. A elevada precisão experimental assegura robustez às

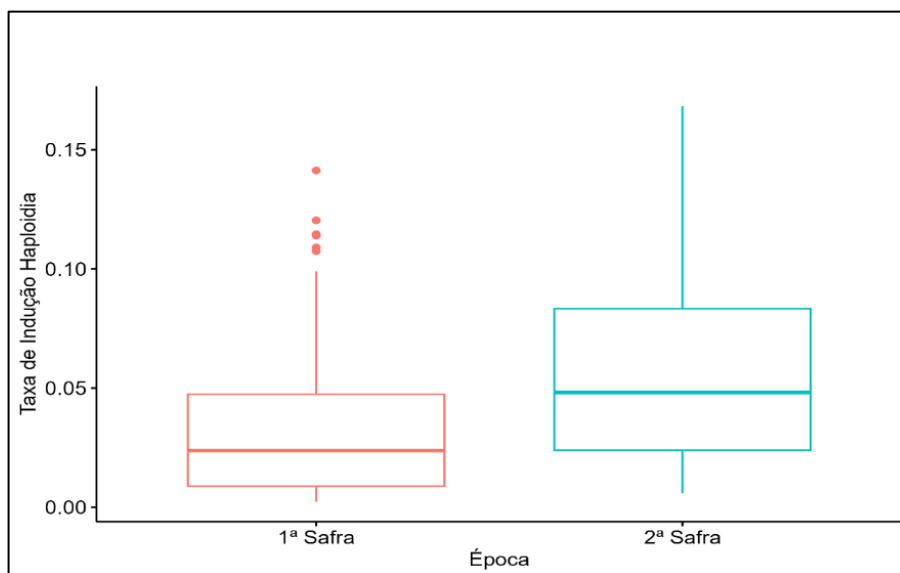
inferências, indicando que o ambiente exerce papel determinante na expressão do caráter avaliado, além disso, pode-se dizer que a variação apresentada pelo boxplot é, mais provavelmente, decorrente da variação ambiental e não de ruído experimental.

A literatura está farta de exemplos de como o efeito ambiental pode influenciar na TIH bem como na identificação das sementes haploides através da marcação do gene R1-nj (EDER e CHALIK, et al., 2002; KEBEDE et al., 2011; BATISTELLI et al., 2013; COUTO et al., 2015). Outro fator importante é o tipo de endosperma das sementes, pois ele pode mascarar a taxa de haploides reais inferidas e influenciar positiva ou negativamente a taxa de haploides putativos (Röber, Gordillo, Geiger 2005). Um estudo realizado em três localidades do México, não encontrou influência do ambiente na TIH. Foi observado uma interação entre os indutores *per se* e o genótipo fonte, mas sem interação entre estes fatores e o ambiente (Prigge et al. 2011).

4.2.2 TIH por época de plantio

O boxplot evidencia diferença clara na TIH entre as duas épocas avaliadas. Observa-se que a 2ª Safra apresenta mediana superior ($\approx 0,048$ – $0,050$) em comparação à 1ª Safra ($\approx 0,020$ – $0,025$), indicando maior eficiência média de indução na segunda época de cultivo (Figura 2).

Figura 2 - Taxa de indução haploide (TIH) em função da época de plantio.



Fonte: Do autor (2026).

Além da diferença de mediana, a 2ª Safra apresenta maior amplitude interquartílica, evidenciando maior variabilidade nos valores centrais. Isso indica que, embora a média tenha sido superior, houve maior dispersão dos resultados nessa condição. Em contraste, a 1ª Safra

apresenta menor dispersão central, sugerindo comportamento mais homogêneo, porém com desempenho médio inferior. Observa-se ainda a presença de alguns valores extremos superiores na 1ª Safra, indicando que ocorreram casos pontuais de maior indução.

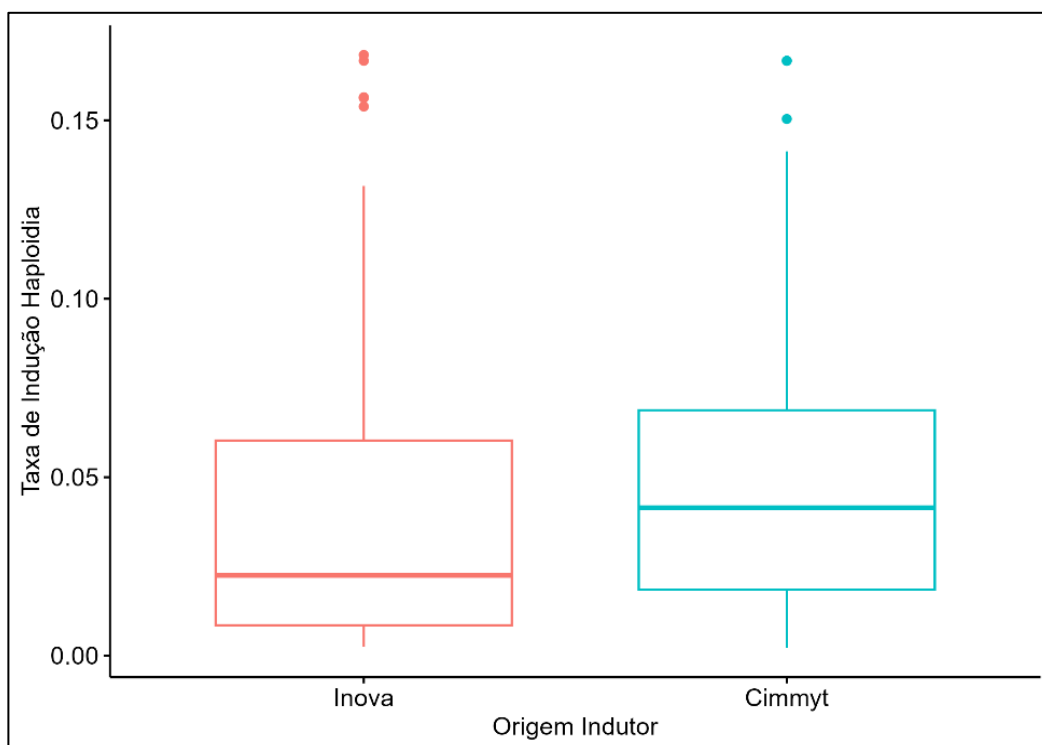
A análise de variância confirmou o efeito significativo de época ($p < 0,001$), demonstrando que a diferença observada entre as safras foi estatisticamente consistente. O valor do quadrado médio indica que a variação atribuída à época foi expressiva quando comparada ao erro residual, evidenciando influência ambiental relevante sobre a expressão do caráter.

O coeficiente de variação experimental foi baixo ($CV \approx 1,28\%$), indicando elevada precisão experimental. Dessa forma, a diferença observada no boxplot entre 1ª e 2ª Safra não pode ser atribuída a erro experimental elevado, mas sim a efeito ambiental real.

4.2.3 TIH por origem do indutor

O boxplot evidencia diferença no desempenho da TIH entre as duas origens avaliadas, Inova e Cimmyt. Observa-se que os indutores provenientes do Cimmyt apresentam mediana superior ($\approx 0,040$ – $0,045$) em comparação aos materiais da Inova ($\approx 0,020$ – $0,025$), indicando maior eficiência média de indução para os materiais do Cimmyt (Figura 3).

Figura 3 - Taxa de indução haploide (TIH) em função da origem do indutor.



Fonte: Do autor (2026).

Além da diferença de mediana, nota-se que a origem Cimmyt apresenta maior amplitude interquartílica, refletindo maior variabilidade entre os valores centrais. Isso indica que, embora a média seja superior, há maior dispersão dos dados. Já os materiais da Inova apresentam menor dispersão central, sugerindo maior homogeneidade, porém com desempenho médio inferior. Observa-se ainda a presença de valores extremos superiores em ambas as origens, indicando que ocorreram casos pontuais de indução elevada.

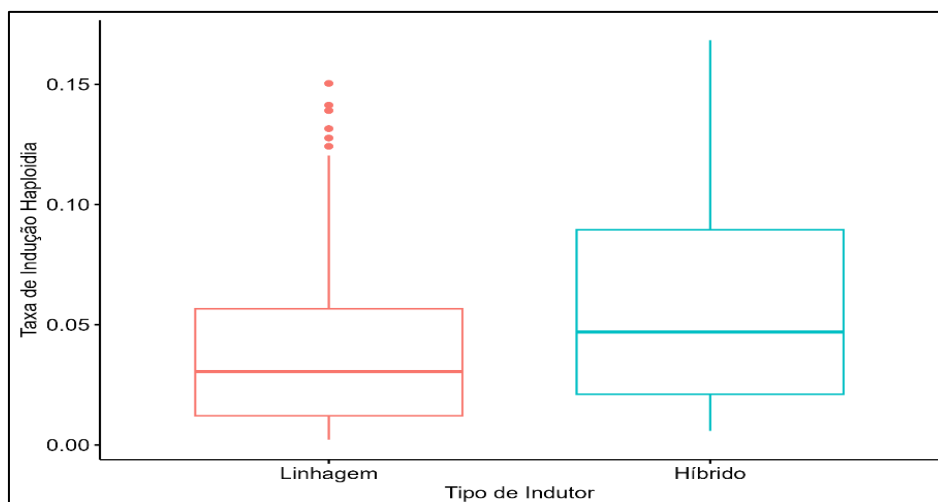
A análise de variância confirmou efeito significativo de origem do indutor ($p < 0,001$), demonstrando que a diferença observada no boxplot é estatisticamente consistente. O valor do quadrado médio indica que a variação entre as origens foi expressiva quando comparada ao erro residual, evidenciando que a origem genética dos indutores exerce influência relevante sobre a taxa de indução.

O coeficiente de variação experimental foi baixo ($CV \approx 1,28-1,29\%$), indicando elevada precisão experimental. Dessa forma, a diferença observada entre Inova e CIMMYT não pode ser atribuída a erro experimental elevado, mas sim a variação genética real associada à origem dos materiais.

4.2.4 TIH por tipo de indutor

O boxplot evidencia diferença consistente na TIH entre os dois tipos de indutores avaliados. Observa-se que os Híbridos apresentam mediana superior ($\approx 0,045-0,050$) em relação às Linhagens ($\approx 0,025-0,030$), indicando maior eficiência média de indução para os híbridos (Figura 4).

Figura 4 - Taxa de indução pelo tipo de indutor (linhagem x híbridos).



Fonte: Do autor (2026).

Além da diferença de mediana, os híbridos apresentam maior amplitude interquartílica, refletindo maior variabilidade entre os valores centrais. Isso sugere que, embora apresentem maior desempenho médio, também exibem maior dispersão dos dados. As linhagens, por sua vez, apresentam menor dispersão central, indicando comportamento mais homogêneo, porém com desempenho médio inferior. Observa-se ainda a presença de valores extremos superiores nas linhagens, demonstrando que, apesar da média inferior, ocorreram casos pontuais de indução elevada.

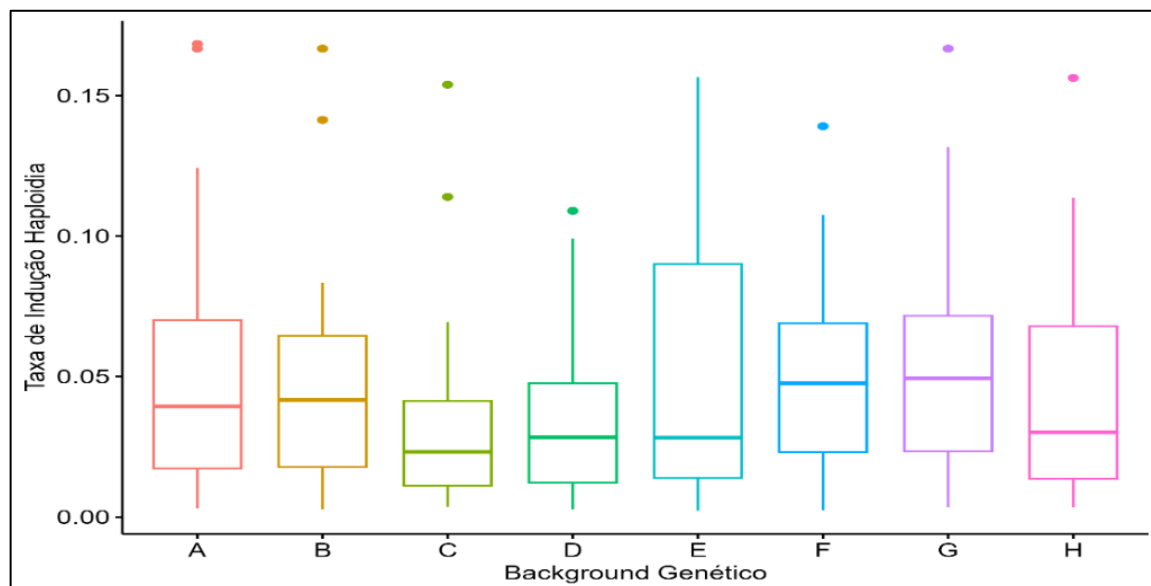
A análise de variância confirmou efeito significativo para tipo de indutor ($p < 0,001$), indicando que a diferença observada entre linhagens e híbridos é estatisticamente consistente. O valor do quadrado médio evidencia que a variação atribuída ao tipo de indutor foi superior à variação residual, reforçando que o contraste visual observado no boxplot possui respaldo estatístico.

O coeficiente de variação experimental foi baixo ($CV \approx 1,30\%$), indicando elevada precisão experimental. Dessa forma, a maior dispersão observada nos híbridos não decorre de erro experimental elevado, mas sim de variabilidade biológica real associada ao tipo de material.

4.2.5 TIH por populações alvo

A distribuição da TIH entre os diferentes backgrounds genéticos evidencia variação fenotípica moderada, conforme observado pelas diferenças nas medianas e na amplitude interquartílica dos grupos A–H. Alguns backgrounds, como F e G, apresentam medianas superiores e maior amplitude interquartílica, indicando maior concentração de valores em faixas mais elevadas de indução. Por outro lado, backgrounds como C e D apresentam medianas inferiores e menor dispersão central, sugerindo desempenho mais restrito (Figura 5).

Figura 5 - Taxa de indução por população induzida.



Fonte: Do autor (2026).

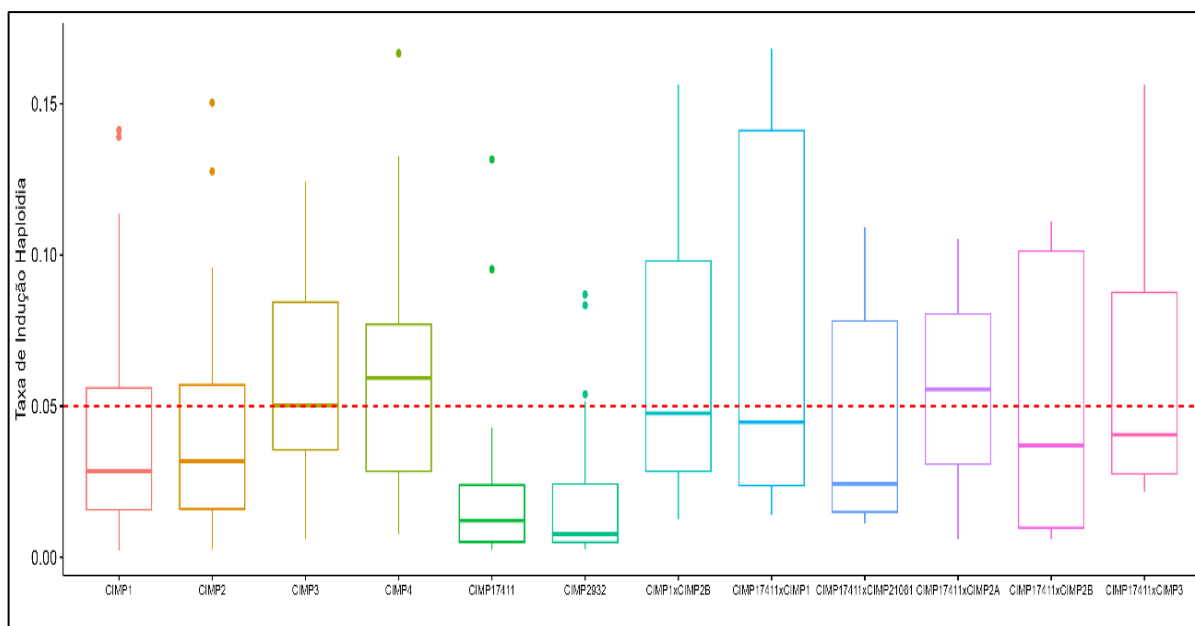
A extensão dos limites inferior e superior dos dados não discrepantes também varia entre os grupos, refletindo diferenças na amplitude fenotípica. Observa-se ainda a presença de valores discrepantes em alguns backgrounds, o que indica ocorrência de respostas extremas em determinadas combinações experimentais.

O coeficiente de variação experimental foi de 1,30%, valor considerado baixo, indicando alta precisão experimental e reduzida variabilidade residual. Dessa forma, a dispersão observada no boxplot pode ser interpretada como variação real entre os backgrounds genéticos, e não decorrente de imprecisão experimental.

4.2.6 TIH geral para todos os indutores avaliados

O boxplot evidencia variação expressiva na TIH entre os indutores *per se*, e suas combinações. Observa-se que CIMP3 e CIMP4 apresentam medianas superiores em relação a CIMP1 e CIMP2, além de maior amplitude interquartílica, indicando maior dispersão entre os 50% centrais dos dados. Por outro lado, CIMP17411 e CIMP2932 apresentam medianas reduzidas e menor amplitude interquartílica, caracterizando desempenho inferior e menor variabilidade interna (Figura 6).

Figura 6 - Taxa de indução de cada indutor *per se*, e suas combinações (híbridos)



Fonte: Do autor (2026).

Entre as combinações híbridas, destaca-se CIMP17411×CIMP2A, que apresenta mediana elevada e distribuição relativamente consistente. Já CIMP1×CIMP2B e CIMP17411×CIMP1 demonstram maior amplitude interquartílica e presença de valores extremos, sugerindo maior instabilidade fenotípica. As demais combinações apresentam comportamento intermediário, com medianas moderadas e dispersão variável.

A presença de valores discrepantes em diferentes genótipos reforça a existência de variação genética e possível interação com fatores ambientais. Entretanto, os coeficientes de variação observados anteriormente entre 1,28% e 1,31% indicam alta precisão experimental, sugerindo que a variabilidade observada nos boxplots reflete predominantemente diferenças genéticas reais, e não inconsistências experimentais.

De modo geral, a amplitude interquartílica observada nos genótipos com maiores medianas indica maior heterogeneidade na expressão da taxa de indução, enquanto genótipos com caixas mais estreitas demonstram maior uniformidade fenotípica.

Como visto na Figura 6, o indutor *per se*, obviamente, influencia na TIH com uma interferência direta do background genético da população induzida no sucesso de identificação dos haploides. Isto é, em certos tipos de cruzamentos de indução, a TIH pode variar e se desviar da média do indutor utilizado pela interação entre indutor e genótipos alvo (Eder e Chalik, et al. 2002).

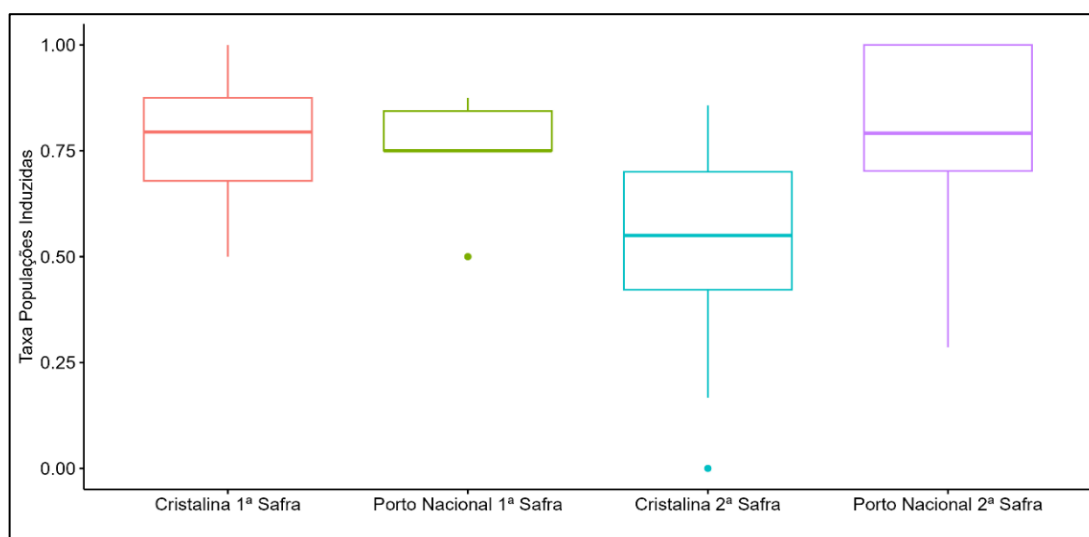
4.3 Análises dos gráficos boxplots da Taxa de Populações Induzidas (TPI) com sucesso em relação as variáveis explicativas

A presente análise refere-se à estimativa da TPI com sucesso, considerando como critério de indução a identificação de qualquer marcação associada ao marcador molecular R1-navajo (R1-nj). Dessa forma, toda população que apresentou expressão do marcador foi classificada como induzida, independentemente da intensidade da manifestação fenotípica. Esse procedimento permitiu quantificar de maneira objetiva a eficiência dos indutores sob diferentes condições experimentais, assegurando padronização na classificação das populações avaliadas.

4.3.1 TPI em função do local de condução dos ensaios

O boxplot evidencia diferenças na distribuição da TPI entre os ambientes avaliados. Observa-se que CRI_Safra1 e PN_Safra2 apresentam medianas similares e maiores. No entanto, PN_Safra2 apresenta maior amplitude interquartílica, indicando maior variabilidade entre as observações (Figura 7).

Figura 7 - Taxa de populações induzidas por local.



Fonte: Do autor (2026).

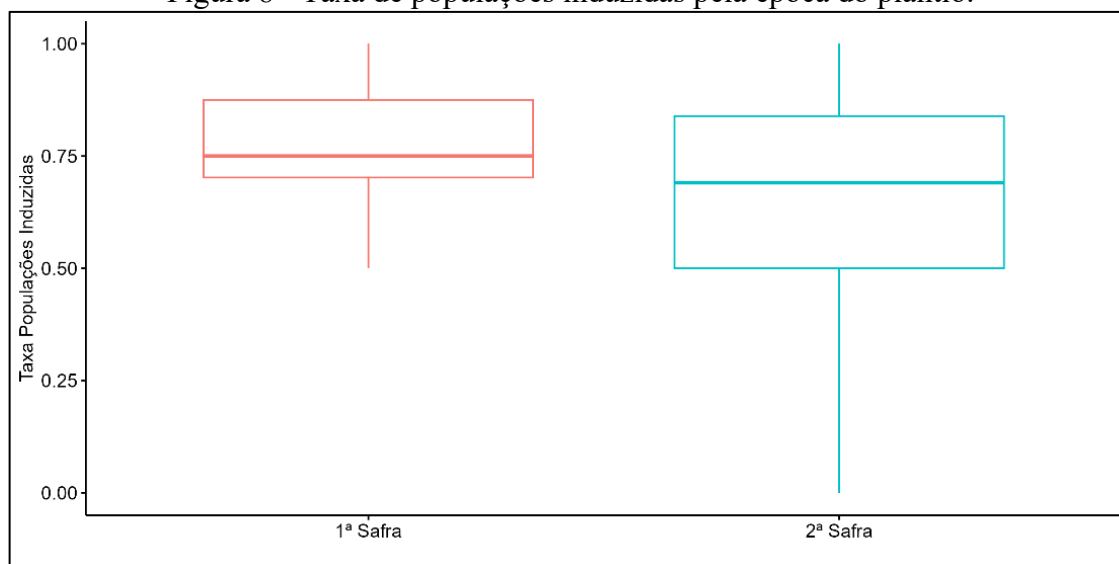
PN_Safra1 apresenta mediana intermediária, com baixa dispersão, indicando pouca variabilidade fenotípica. Já CRI_Safra2 apresenta mediana inferior em relação aos demais ambientes, além da segunda maior heterogeneidade nos valores mínimos e máximos. A presença de valores discrepantes pontuais sugere ocorrência de respostas extremas em determinadas combinações genéticas ou condições microambientais.

Considerando o coeficiente de variação previamente estimado ($\approx 1,3\%$), a variabilidade observada nos boxplots reflete predominantemente diferenças reais entre ambientes, e não imprecisão experimental, indicando boa confiabilidade dos dados.

4.3.2 TPI em função da época de plantio

Na comparação entre primeira e segunda safra, observa-se maior mediana para a primeira safra, acompanhada de menor amplitude interquartílica. Isso indica que, além de apresentar tendência de maior taxa de indução, essa época também manifesta menor variabilidade fenotípica. A segunda safra apresenta distribuição menos concentrada, sugerindo menor estabilidade, com mediana ligeiramente inferior (Figura 8).

Figura 8 - Taxa de populações induzidas pela época do plantio.



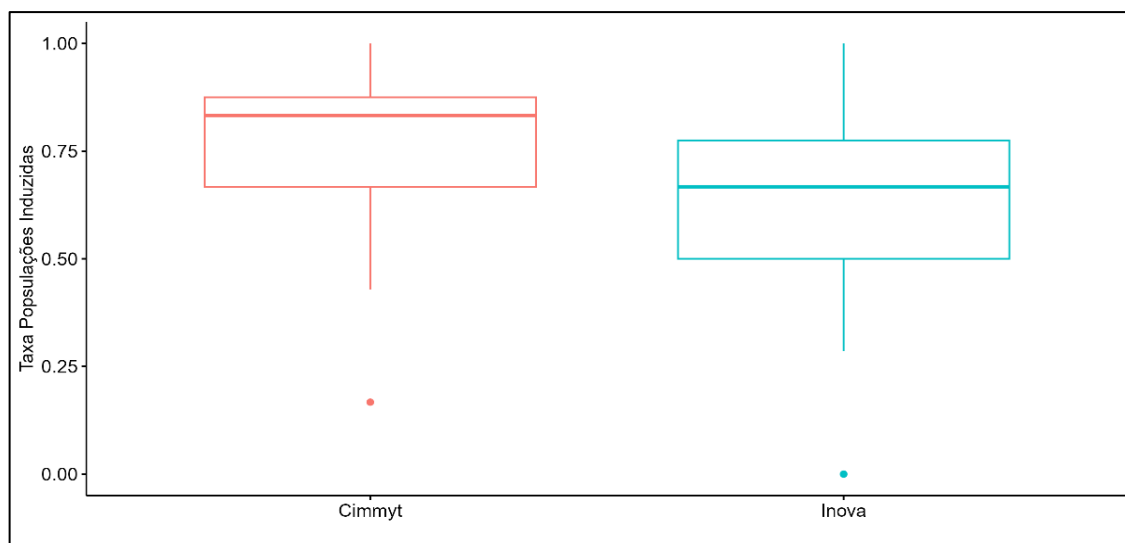
Fonte: Do autor (2026).

A baixa magnitude do CV reforça que as diferenças visuais observadas no boxplot são consistentes e não decorrentes de erro experimental elevado, permitindo atribuir as variações principalmente ao efeito da época de plantio.

4.3.3 TPI em função da origem do indutor

A comparação entre as origens demonstra superioridade da origem Cimmyt, com mediana mais elevada e distribuição concentrada em faixas superiores de taxa de indução (Figura 9).

Figura 9 - Taxa de populações induzidas pela origem do indutor.



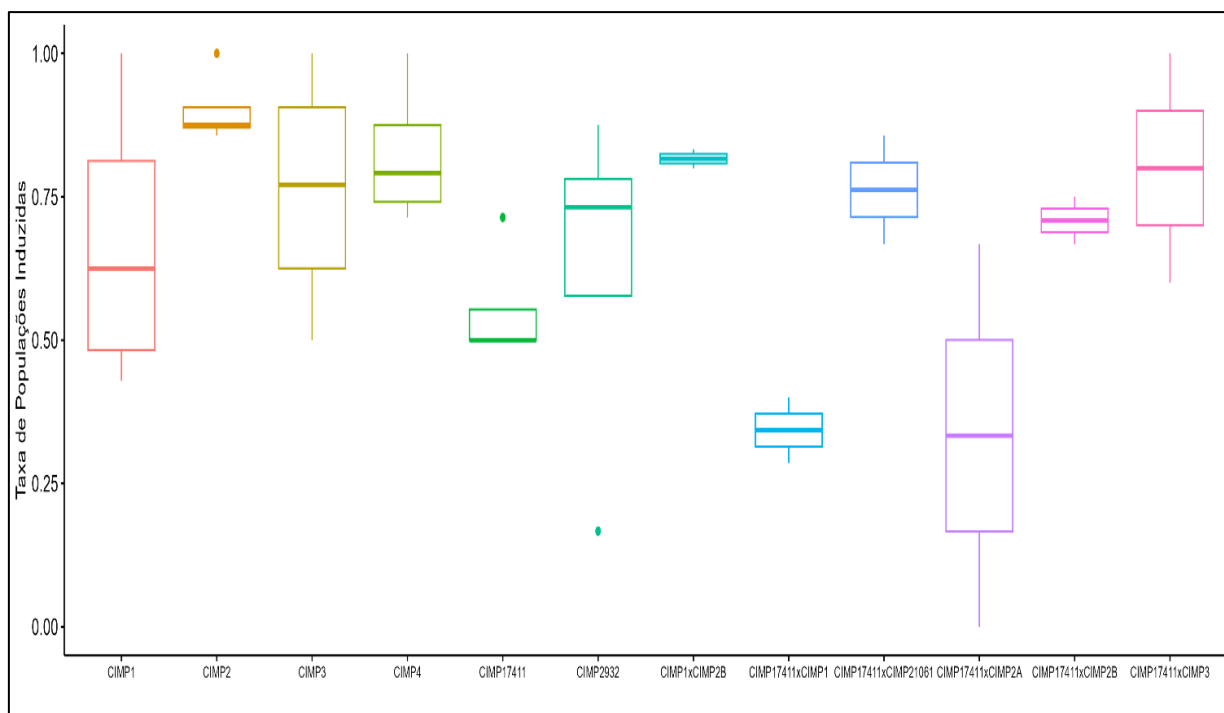
Fonte: Do autor (2026).

A origem Inova apresenta mediana inferior e maior variabilidade relativa, com valores distribuídos em faixa mais ampla e ocorrência de observações próximas ao limite inferior. Considerando o reduzido coeficiente de variação experimental, as diferenças visuais observadas indicam efeito consistente da origem do indutor sobre a taxa de populações induzidas.

4.3.4 TPI em função do indutor

Entre os indutores avaliados, observa-se clara distinção nas distribuições. CIMP2 e o CIMP1xCIMP2B apresenta a maior mediana e distribuição relativamente consistente. CIMP3, CIMP4, CIMP17411xCIMP21061 e o CIMP17411xCIMP3 também demonstram desempenho elevado, com dispersão moderada. Já CIMP1_7411, CIMP17411xCIMP1 e CIMP17411xCIMP2A apresentam as menores medianas, indicando desempenho inferior. (Figura 10).

Figura 10 - Taxa de populações induzidas pelo indutor.



Fonte: Do autor (2026).

A existência de valores extremos superiores em alguns indutores indica potencial elevado sob determinadas condições. A baixa estimativa de CV confirma que as diferenças observadas no boxplot refletem variação genética e não ruído experimental.

4.4 Adaptabilidade ambiental e estabilidade genotípica

4.4.1 O método GGE biplot

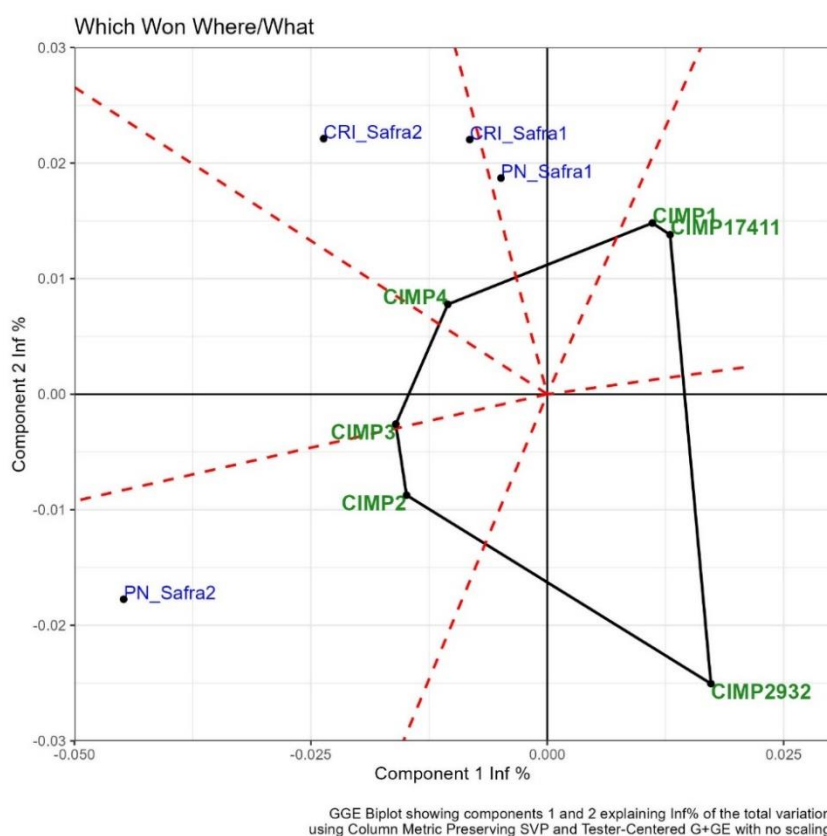
A análise GGE biplot evidenciou forte contribuição da interação $G \times A$ na expressão da taxa de indução haploide, demonstrando que o desempenho dos indutores é dependente do ambiente (local $\times$ safra). A identificação de setores distintos no gráfico “*which-won-where*” confirma a presença de adaptação específica, enquanto o gráfico de “*ranking genotypes*” permite discriminar os materiais quanto à média geral e estabilidade, além disso, o gráfico de “*relationship among environments*” permite distinguir quais dos ambientes são mais discriminatórios e, portanto, inferir algumas das possibilidades de seleção para cada ambiente.

Para os indutores avaliados quanto à taxa de indução de haploidia, os dois primeiros componentes principais explicaram 9,19% da variação total da interação $G+GE$ (PC1 = 5,15% e PC2 = 4.04%). Essa proporção da variação indica que o modelo bidimensional foi adequado para representar o padrão de desempenho e interação entre indutores e ambientes.

4.4.2 Análise gráfica “which-won-where”

O polígono “which-won-where” formado pelo GGE biplot permitiu identificar o indutor de melhor desempenho para cada ambiente presente em um mesmo setor. Os vértices do polígono foram formados pelos indutores CIMP1, CIMP17411, CIMP2932, CIMP2 e CIMP4, indicando que esses materiais apresentaram maior responsividade específica em determinados ambientes (Figura 11).

Figura 11 - Polígono “which-won-where” do método GGE biplot de 6 indutores de haploidia em milho avaliados em locais de altitude diferentes em condições de primeira e segunda safra.



Fonte: Do autor (2026).

Os ambientes foram distribuídos em setores distintos. Observou-se que CRI_Safra1 e CRI_Safra2 se posicionaram no mesmo setor, indicando similaridade de comportamento ambiental e favorecimento dos indutores localizados no vértice correspondente, especialmente CIMP4, o qual apresenta desempenho superior nesse grupo de ambientes.

Por outro lado, PN_Safra2 foi alocado em setor distinto, evidenciando comportamento ambiental diferenciado. Nesse setor, o indutor CIMP2 se posicionou como vértice do polígono,

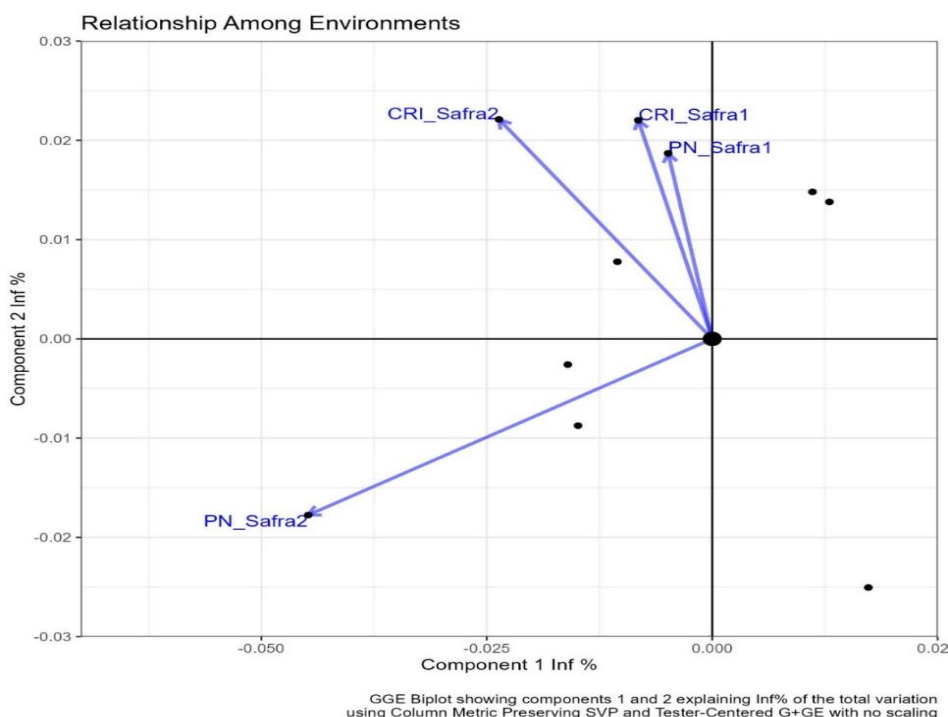
indicando maior desempenho específico nesse ambiente. Já o ambiente PN_Safra1 apresentou posicionamento sem nenhum indutor em seu setor. No entanto, os indutores mais próximos do setor de PN_Safra1 são o CIMP1 e CIMP4, sugerindo melhor adaptação relativa desses indutores para essa condição. No entanto, a distância no eixo X entre os ambientes CRI_Safra1 e PN_Safra1 é muito pequena e mesmo estando em vértices distintos, os dois ambientes são semelhantes, principalmente por serem da mesma época.

A formação desses setores indica a presença de padrões distintos de interação $G \times A$, evidenciando que determinados indutores apresentam superioridade específica em ambientes particulares. Assim, observa-se a configuração de pelo menos dois grupos ambientais distintos, caracterizando possíveis mega-ambientes quanto à TIH. Tais mega-ambientes podem ser interpretados como agrupamentos de ambientes, sendo um deles CRI_Safra1, PN_Safra1 e CRI_Safra2, e o outro, PN_Safra2. Este resultado confirma interpretações anteriores das TIH em relação às variáveis explicativas como local de condução do ensaio, época de plantio, origem do indutor e performance do indutor *per se* (Figuras 1, 2, 3 e 6) de que o melhor local para conduzir os campos de indução é em CRI_Safra2 usando os indutores híbridos provenientes do Cimmyt, em especial o indutor CIMP4. Diferentemente, Silva (2017) concluiu que existe uma maior eficiência na indução de haploidia para experimentos conduzidos na primeira safra no Estado do Paraná, na região de Maringá, usando indutores diferentes dos usados no presente estudo.

4.4.3 Análise gráfica “*relationship among environments*”

Em relação à discriminação e representatividade (*relationship among environments*), a magnitude dos vetores ambientais indica a capacidade de cada ambiente em diferenciar os indutores. O ambiente PN_Safra2 apresentou vetor mais longo, caracterizando maior poder discriminante. Em contraste, CRI_Safra1 e PN_Safra1 apresentaram vetores relativamente mais curtos, indicando menor discriminação (Figura 12).

Figura 12 - Avaliação gráfica “*relationship among environments*” pelo método GGE biplot de 4 ambientes com altitudes diferentes, em condições de primeira e segunda safra.



Fonte: Do autor (2026).

Observou-se que CRI_Safra1 e PN_Safra1 apresentaram vetores com ângulos bastante reduzidos entre si, indicando forte correlação positiva. Isso sugere que os genótipos tendem a apresentar comportamento semelhante nesses dois ambientes, caracterizando-os como ambientes redundantes do ponto de vista da discriminação genotípica.

De forma semelhante, CRI_Safra2 posicionou-se no mesmo quadrante superior esquerdo, mantendo correlação positiva com os ambientes de primeira safra, embora com maior inclinação em relação ao eixo do primeiro componente. Isso indica que, apesar da similaridade, há alguma contribuição diferenciada da segunda componente, possivelmente refletindo influência específica da época sobre o desempenho relativo dos genótipos.

Em contraste, PN_Safra2 apresenta vetor direcionado ao quadrante inferior esquerdo, formando ângulo obtuso em relação aos ambientes de primeira safra. Essa configuração indica correlação negativa ou baixa associação, evidenciando mudança no padrão de resposta dos genótipos nessa condição ambiental. Essa distinção observada para PN_Safra2 também pode estar associada às condições ambientais mais desafiadoras da segunda safra em Porto Nacional. Nesse período, são comuns temperaturas elevadas e alta pressão de pragas, fatores que podem comprometer o desenvolvimento reprodutivo do milho. Temperaturas altas durante o florescimento reduzem a viabilidade do pólen e a eficiência da fecundação, afetando a formação

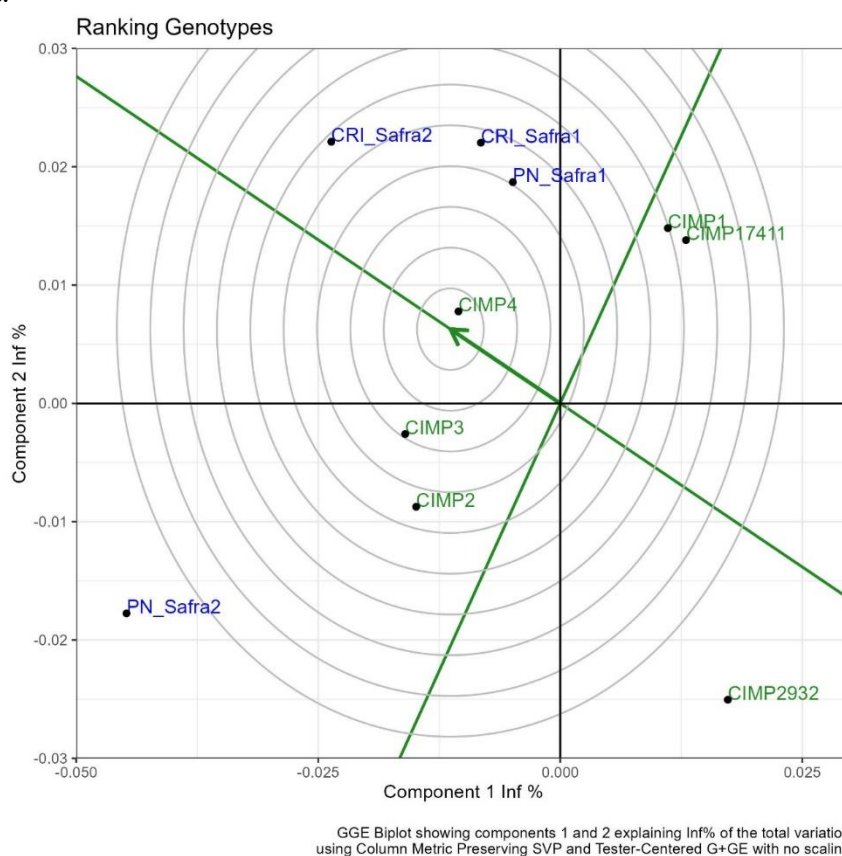
de grãos. Além disso, por se tratar de materiais tropicais específicos, como os indutores, que dependem de processos reprodutivos eficientes, essas condições podem dificultar a condução dos ensaios e contribuir para maior interação genótipo $\times$ ambiente.

A influência do ambiente nas TIH foi avaliada através de cruzamentos dialelos e não foi detectado interação entre a capacidade geral e específica de combinação com as safras, indicando uma possível não relevância do efeito do ambiente (Kebede et al. 2011). Os autores ainda concluem que a TIH seria muito mais dependente da capacidade de indução do indutor, bem como sua interação com o germoplasma fonte.

4.4.4 Análise gráfica *ranking genotypes*

A avaliação de média vs. estabilidade foi baseada na projeção dos indutores sobre o eixo da Coordenada do Ambiente Médio (CMA). A direção da seta indica maior valor médio de taxa de indução haploide ao longo dos ambientes (Figura 13).

Figura 13 - Avaliação gráfica “*ranking genotypes*” pelo método GGE biplot de 6 indutores de haploidia em milho avaliados em locais de altitude diferentes em condições de primeira e segunda safra.



Fonte: Do autor (2026).

Os indutores CIMP4 e CIMP3 apresentam maiores projeções na direção da seta do CMA, evidenciando maior média de indução em relação aos demais. Entre eles, CIMP4 destaca-se por apresentar menor distância perpendicular ao eixo do CMA, indicando maior estabilidade. Já CIMP3, embora também apresente média elevada, demonstra leve afastamento do eixo, sugerindo estabilidade moderada.

O indutor CIMP2, apesar de apresentar projeção considerável na direção da média (indicando um razoável desempenho médio), exibe maior distância perpendicular ao eixo do CMA, caracterizando maior instabilidade e maior sensibilidade às variações ambientais em relação ao CIMP4 e CIMP3. Esse comportamento sugere desempenho específico para determinados ambientes, mas menor previsibilidade geral.

Por outro lado, CIMP1, CIMP17411 e CIMP2932, posicionados no sentido oposto ao da seta do CMA, apresentam projeções negativas no eixo da média, indicando desempenho inferior à média geral do conjunto de ambientes, além de apresentar baixa estabilidade devido ao seu afastamento perpendicular da reta CMA. De modo geral, CIMP4 destaca-se como o indutor de melhor desempenho global, por aliar elevada média de indução e maior estabilidade. CIMP3 apresenta desempenho semelhante, porém com estabilidade ligeiramente inferior, enquanto CIMP2932 demonstra o pior desempenho e pouca estabilidade.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo confirmam que as condições ambientais exercem influência significativa sobre a taxa de indução de haploidia (TIH) em milho, validando a hipótese de que diferenças entre ambientes, especialmente associadas à época de plantio e ao local de condução, afetam a eficiência do processo. Observou-se que ambientes de segunda safra apresentaram maior eficiência de indução, evidenciando o papel determinante das condições ambientais na expressão da TIH.

Em relação aos fatores genéticos, verificou-se que a origem e o tipo de indutor influenciam significativamente a taxa de indução, com destaque para os indutores provenientes do CIMMYT e para materiais híbridos, que apresentaram desempenho superior. Esses resultados reforçam a importância da base genética dos indutores na eficiência do processo de indução de haploidia.

Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas entre as populações avaliadas, indicando que, nas condições deste estudo, os genótipos fonte apresentaram resposta relativamente uniforme à indução.

De forma geral, conclui-se que a eficiência da indução de haploidia em milho é resultado da interação entre fatores ambientais e genéticos, sendo a época de plantio o fator de maior impacto entre os avaliados. Assim, a otimização do processo de obtenção de duplo-haploides depende da escolha adequada do ambiente de condução dos ensaios e do uso de indutores com maior potencial genético, contribuindo para maior eficiência nos programas de melhoramento genético de milho.

REFERÊNCIAS

AMIS – AGRICULTURAL MARKET INFORMATION SYSTEM. **Download the full market database dataset**. Disponível em: <https://www.amis-outlook.org/>. Acesso em: 28 dez. 2023.

BELAY, N. Combining ability studies from line x tester mating design for grain yield and its related traits of mid-altitude maize inbred lines. **International Journal of Food Science and Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 64–75, 2022. Disponível em: <https://wap.hillpublisher.com/UpFile/202203/20220316114351.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2024.

BATTISTELLI, G. M. et al. Production and identification of doubled haploids in tropical maize. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 4, p. 4230–4242, 2013.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de plantas**. 8. ed. São Paulo: Oficina de Texto, 2021.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. Viçosa: UFV, 2013.

CHAIKAM, V. et al. Doubled haploid technology for line development in maize: technical advances and prospects. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, p. 3227–3243, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00122-019-03433-x>. Acesso em: 07 jul. 2024.

CHAIKAM, V. et al. Marker assisted breeding of improved maternal haploid inducers in maize for the tropical/subtropical regions. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1527, 2018.

CHANG, M. T.; COE, E. H. Doubled haploids. In: **MOLECULAR genetic approaches to maize improvement**. Berlin: Springer, 2009. p. 127–142. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-68922-5_10. Acesso em: 07 jul. 2024.

COÊLHO, J. D. Agricultura: milho produção e mercado. **Caderno Setorial ETENE**, ano 8, n. 291, 2023. Disponível em: https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/1788/3/2023_CDS_291.pdf. Acesso em: 07 jul. 2024.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/itemlist/category/910-Milho>. Acesso em: 07 jul. 2024.

COUTO, E. G. O. et al. In vivo haploid induction and efficiency of two chromosome duplication protocols in tropical maize. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 39, n. 5, p. 435–442, 2015.

CRUZ, J. C. et al. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/921542/1/500perguntasmilho.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2024.

DANG, N. C. et al. Inducer line generated double haploid seeds for combined waxy and opaque 2 grain quality in subtropical maize (*Zea mays* L.). **Euphytica**, v. 183, p. 153–160, 2012.

DE MENDIBURU, F. **agricolae: statistical procedures for agricultural research**. R package version 1.3-5. 2020. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. Acesso em: 02 mar. 2026.

DUMBLE, S. **GGEbiplots: GGE biplots with ggplot2**. R package version 0.1.1. 2017. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=GGEbiplots>. Acesso em: 02 mar. 2026.

EDER, J.; CHALYK, S. In vivo haploid induction in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, n. 4, p. 703–708, 2002.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2006.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Indicações técnicas para o cultivo de milho e sorgo no Rio Grande do Sul**. Brasília: Embrapa, 2017.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Milho: importância socioeconômica**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/pre-producao/socioeconomia>. Acesso em: 07 jul. 2024.

FANCELLI, A. L. Cultivo racional e sustentável requer maior conhecimento sobre planta do milho. In: MASSOLA JÚNIOR, N. S. (ed.). **Visão agrícola: milho**. Piracicaba: ESALQ, 2015.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. 2023.

KEBEDE, A. Z. et al. Effect of source germplasm and season on the in vivo haploid induction rate in tropical maize. **Euphytica**, v. 180, n. 2, p. 219–226, 2011.

MITIKU, T. Review on haploid and double haploid maize breeding technology. **International Journal of Agricultural Science and Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 052–058, 2022.

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Disponibilidade de cultivares de milho para o mercado de sementes do Brasil: safra 2021/2022**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2022.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: FEALQ, 2000.

PINHO, R. G. V.; SANTOS, A. O.; PINHO, I. V. V. Botânica. In: GALVÃO, J. C. C.; BORÉM, A.; PIMENTEL, M. A. **Milho: do plantio à colheita**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2017.

PIRES, R. M. O. et al. Identification of double-haploid maize plants one generation after the chromosome doubling. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 11, 2019.

PRASANNA, B. M.; CHAIKAM, V.; MAHUKU, G. **Tecnologia haploide duplicada no melhoramento de milho: teoria e prática**. México: CIMMYT, 2012.

PRIGGE, V. et al. New insights into the genetics of in vivo induction of maternal haploids. **Genetics**, v. 190, n. 2, p. 781–793, 2011.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2023.

RÖBER, F. K.; GORDILLO, G. A.; GEIGER, H. H. In vivo haploid induction in maize. **Maydica**, v. 50, p. 275–283, 2005.

ROTARENCO, V. et al. New inducers of maternal haploids in maize. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, v. 84, p. 21–22, 2010.

SAMPAIO, C.; ASSIS, D. R. Etanol de milho: novas perspectivas no mercado brasileiro. **Revista Interface Tecnológica**, v. 20, n. 2, p. 751–761, 2023.

SILVA, H. A. **Indução de haploidia e eficiência de técnicas aplicadas na obtenção de duplo-haploides em milho**. 2017. Dissertação (Pós-graduação em Agronomia) – Universidade Estadual de Maringá.

SIMON, G. A. et al. Genotype-environment interaction on baby corn production. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 41, n. 2, p. 383–394, 2020.

SOLAIMALAI, A. et al. **Maize crop: improvement, production, protection and post harvest technology**. London: CRC Press, 2020.

WANG, B. et al. Development of a haploid-inducer mediated genome editing system for accelerating maize breeding. **Molecular Plant**, v. 12, n. 4, p. 597–602, 2019.

WRIGHT, K.; LAFFONT, J. L. **gge: genotype plus genotype-by-environment biplot**. R package version 1.0. 2017.

YAN, W. GGE biplot — a Windows application for graphical analysis of multi-environment trial data. **Agronomy Journal**, v. 93, n. 5, p. 1111–1118, 2001.

YAN, W. et al. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. **Crop Science**, v. 40, n. 3, p. 597–605, 2000.

YAN, W. et al. GGE biplot vs. AMMI analysis of genotype-by-environment data. **Crop Science**, v. 47, n. 2, p. 643–653, 2007.

ZYSTRO, J. et al. Inbred and hybrid sweet corn genotype performance in diverse organic environments. **Crop Science**, v. 61, n. 4, p. 2280–2293, 2021.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1965.